

## SINTESIS SENYAWA $C_{18}H_{26}O_9$ DARI HIPTOLIDA HASIL ISOLASI DAUN *HYPTIS PECTINATA*

Meiny Suzery, Ely Kusniawati, Dwi Hudiyantri, dan Bambang Cahyono<sup>\*)</sup>

Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia MIPA Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Sudharto, Tembalang, Semarang 50275, Telp. 024-76480824

<sup>\*)</sup>Penulis korespondensi: bambang\_cahyono@undip.ac.id

### Abstract

**SYNTHESIS OF  $C_{18}H_{26}O_9$  COMPOUNDS FROM HIPTOLIDE ISOLATED FROM HIPTIS PECTINATA LEAVES.** Isolation of hyptolide has been done from *Hyptis pectinata*, and alkene group transformation through oxidation reactions using  $H_3B:OEt_2$  to the isolated compound was also conducted. Product analyses were carried out using TLC, UV spectrometry, IR, and LC-MS. Pure crystal with melting point of 86-87°C was isolated. The yield was 1.75% (w/w). After analysing and compiling of spectroscopic data it was confirmed as hyptolide compound. Hydroboration of this compound (followed by hydrolysis using  $H_2O_2$  under alkaline conditions) produce its alcohol derivatives, with 28.9% the percentage of transformation, it was demonstrated by LCMS data. IR spectrum at  $3600cm^{-1}$ , confirming the replacement of hydroxyl bond by alkene. Regioselectivity of addition reaction is proposed through simulation with Chem Office. The reaction product was suspected as 6-hydroxy-7-(6-oxo-3,6-dihydro-2H-pyran-2-yl) heptane-2,3,5-triyl triacetate. Extension of reaction time to 24 hours, has increase hydroboration product to 78.3%. This research has opened other studies of natural materials in accordance to the roadmap set.

**Keywords:** hydroboration; *hyptis pectinata*; hyptolide

### Abstrak

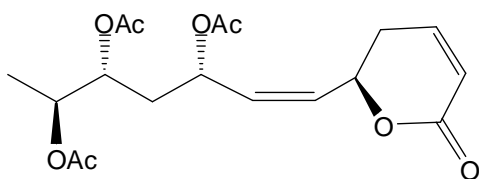
Telah dilakukan isolasi hiptolida dari bahan alam *Hyptis pectinata*, dan transformasinya melalui reaksi oksidasi menggunakan  $H_3B:OEt_2$  terhadap gugus alkena pada senyawa hasil isolasi. Analisis produk dilakukan menggunakan KLT, spektrometri UV, IR, dan LC-MS. Kristal murni dengan titik leleh 86-87°C berhasil diisolasi dengan rendemen 1,75 % (b/b), dirujuk sebagai senyawa hiptolida setelah melalui analisis dan kompilasi data-data spektroskopi. Hidroborasi terhadap senyawa hiptolida (yang diikuti hidrolisis menggunakan  $H_2O_2$  dalam suasana basa) menghasilkan senyawa alkohol turunannya, dengan persentase transformasi sebesar 28,9%, dapat ditunjukkan melalui data LCMS. Data spectrum IR menunjukkan adanya puncak pada  $3600cm^{-1}$ , memperkuat dugaan adanya ikatan hidroksil menggantikan gugus alkena. Regioselektivitas reaksi adisi diusulkan melalui simulasi dengan Chem Office, produk reaksi diduga mempunyai struktur sebagai 6-hydroxy-7-(6-oxo-3,6-dihydro-2H-pyran-2-yl)heptane-2,3,5-triyl triacetate. Perpanjangan waktu reaksi selama 24 jam, telah dapat menaikkan produk hidroborasi menjadi 78,3%. Data penelitian ini telah membuka jalan bagi penelitian-penelitian bahan alam lain sesuai dengan roadmap penelitian yang telah ditetapkan.

**Kata kunci:** hidroborasi; *hyptis pectinata*; hiptolida

### PENDAHULUAN

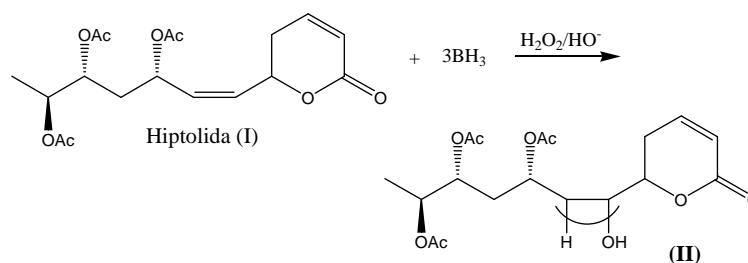
Senyawa dengan sistem  $\alpha$ ,  $\beta$  lakton tak jenuh, baik hasil sintesis (Sabitha dkk., 2010) maupun isolat dari bahan alam (Deng, 2009) telah dilaporkan memiliki aktivitas antikanker serviks (Espinoza dkk., 2009). Salah satu dari senyawa tersebut, yaitu hiptolida dapat diisolasi dari tanaman *Hyptis pectinata* (Gambar 1) yang tumbuh subur dan diperoleh secara mudah di Indonesia.

Senyawa hiptolida pertama kali berhasil diisolasi dari daun *Hyptis pectinata* sebanyak 2%, dan diusulkan memiliki struktur  $\alpha$ ,  $\beta$  lakton tak jenuh dengan rumus molekul  $C_{18}H_{24}O_8$  (Gorter, 1920). Birch dan Butler (1964) mencoba menguji kembali kebenaran struktur molekul hiptolida tanpa memperhatikan stereokimianya. Kemudian tahun 1987, Achmad dkk. menyempurnakan struktur hiptolida secara tiga dimensi dan ditunjukkan seperti pada Gambar 2.

Gambar 1. Tanaman *Hyptis pectinata*

Gambar 2. Struktur senyawa hiptolida

Dilihat dari strukturnya, senyawa hiptolida memiliki 3 gugus fungsi utama, yakni cincin lakton siklis, ikatan rangkap C=C tak terkonjugasi, dan gugus asetat. Ketiga gugus fungsi ini merupakan pusat aktif yang dapat digunakan untuk keperluan sintesis. Suzery dan Achmad (1991) telah berhasil mentransformasi ikatan rangkap C=C pada hiptolida melalui reaksi epoksidasi menggunakan asam *m*-kloroperoksibenzoat (*m*-CPBA). Dalam kurun waktu dua puluh tahun terakhir ini, belum ada peneliti lain yang memanfaatkan senyawa bahan alam hiptolida ini untuk keperluan penyediaan senyawa-senyawa baru melalui transformasi. Pada percobaan ini telah dicoba melakukan reaksi transformasi melalui reaksi hidroborasi, yang kemudian diikuti dengan reaksi hidrolisis, untuk menghasilkan turunan alkohol dari hiptolida (Gambar 3). Keberadaan gugus alkohol dalam senyawa hiptolida sangat penting guna merubah kepolaran molekul sehingga nantinya dapat digunakan untuk mempelajari hubungan struktur dan aktivitas farmakologisnya, khususnya anti kanker (Dong, 2011).



Gambar 3. Reaksi hidroborasi senyawa hiptolida menjadi alkohol turunannya

## METODE PENELITIAN

### Bahan Penelitian

#### Sampel

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman *Hyptis pectinata*, yang dikumpulkan dari daerah Alam Kanayakan, Dago, Bandung, Jawa Barat pada bulan Februari tahun 2011.

#### Bahan kimia

F<sub>3</sub>B:OEt<sub>2</sub> dari Merck, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, semua bahan kimia dan pelarut memiliki grade pro-analisis.

#### Alat Penelitian

*Fisher-John* apparatus untuk menentukan titik leleh, *rotary evaporator* Buchi, seperangkat alat TLC, spektrofotometer UV-VIS Hitachi U2800), IR Shimadzu, LC-MS *Mariner Biospectrometry* (LC: Hitachi LC 6200 dengan kondisi *ESI positive ion mode*, Kolom C18 Supelco, eluen metanol/air:90/10, *Flow rate* 1ml/min)

### Prosedur Penelitian

#### Isolasi hiptolida

Tahap isolasi dilakukan sesuai dengan prosedur yang pernah dilakukan oleh Suzery (1991). Sebanyak 523,64 g bubuk *Hyptis pectinata* Poit dimaserasi dengan menggunakan 800 mL etanol selama 6x24 jam. Ekstrak yang diperoleh diuapkan hingga sepertiga volume, ditambahkan air dengan perbandingan 1:1, lalu didiamkan 1x24 jam hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bagian atas berupa lapisan etanol-air yang berwarna kuning, sedangkan lapisan bagian bawah berupa endapan hijau yang diduga mengandung klorofil. Lapisan bagian atas dipisahkan dan terbentuk kristal hiptolida setelah didinginkan pada suhu kamar. Kristal yang diperoleh dimurnikan dengan cara rekristalisasi menggunakan pelarut eter. Hasil dianalisis menggunakan *Thin layer Chromatography* (TLC), titik leleh spektrofotometer UV, IR, dan LCMS.

#### Reaksi hidroborasi

Prosedur dan perbandingan mol reagen reaksi ini mengikuti cara yang pernah dilakukan oleh Ceylan dkk. (2006) untuk phenilsikloheksena. Sebanyak 0,09 mmol (3,4776 mg) NaBH<sub>4</sub> dimasukkan ke dalam labu leher tiga dimasukkan, dan ditambahkan 10 mL THF.

Penambahan 0,092 mmol (11,30 mL)  $H_3B:OEt_2$  dilakukan secara perlahan pada kondisi inert (aliran gas nitrogen), lalu diaduk pada suhu  $0^\circ C$  selama 20 menit. Hiptolida yang telah dilarutkan dalam THF ditambahkan secara perlahan tetes demi tetes melalui corong penambah. Campuran diaduk selama 4 jam pada suhu  $25^\circ C$ . Natrium hidroksida (NaOH) 3 M (0,945 mmol) dan  $H_2O_2$  30% (0,945 mmol) ditambahkan secara berurutan, dan diaduk pada suhu  $50^\circ C$  selama 45 menit. Hasil reaksi ditambahkan larutan  $NaHCO_3$ , kemudian diekstraksi dengan dietil eter hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan organik diambil, ditambahkan  $MgSO_4$  anhidrat dan disaring, kemudian dievaporasi untuk menguapkan sisa pelarut. Hasil berupa padatan berwarna coklat, yang kemudian dianalisis menggunakan TLC, spektrofotometer IR, dan LC-MS.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Senyawa Hiptolida

Simplisia *Hyptis pectinata* yang digunakan pada penelitian ini memiliki kadar air sebesar 7,60%. Kristal putih berbentuk jarum yang diduga senyawa hiptolida, telah berhasil diisolasi (1,7%) setelah melalui serentetan tahap separasi dan pemurnian. Analisis kemurnian senyawa hasil isolasi dan keberadaan senyawa hiptolida dapat dilakukan secara cepat menggunakan data-data kromatografi lapis (KLT), titik leleh dan spektroskopinya. Identifikasi KLT menggunakan reagen penampak bercak  $H_2SO_4$  yang dipanaskan pada suhu  $100-120^\circ C$  menunjukkan adanya satu noda dengan  $R_f$  0,66 (dalam eluen eter) dan  $R_f=0,71$  (dalam eter/ $CHCl_3$ : 3/2), sama dengan harga  $R_f$  hasil hiptolida hasil isolasi seperti yang pernah dilaporkan Suzery, dkk (1991). Harga titik leleh yang sangat tajam, yakni  $86-87^\circ C$ , juga tidak jauh berbeda dengan titik leleh hiptolida yang pernah dilaporkan: Gorter (1920)  $88,5^\circ C$ , Birch dan Butler (1964)  $88,5^\circ C$ , Achmad dkk. (1987)  $87-88^\circ C$ , dan Suzery (1989)  $87-88^\circ C$ . Menurut Miranda dkk. (1993) dan Boalino dkk. (2003) sistem  $\alpha,\beta$  lakton tak jenuh memberikan serapan UV pada panjang gelombang

$204-218$  nm. Senyawa hasil isolasi memberikan serapan maksimum pada  $212,5$  nm, mirip dengan laporan Birch dan Butler (1964) pada  $212,0$  nm. Penguatan dugaan senyawa hiptolida hasil isolasi juga dilakukan menggunakan spektrofotometer infra merah (IR), memberikan puncak spesifik hasil vibrasi ulur ester atau lakton ( $1735,93$   $cm^{-1}$  dan ikatan rangkap  $C=C$  ( $1635,64$   $cm^{-1}$ ).

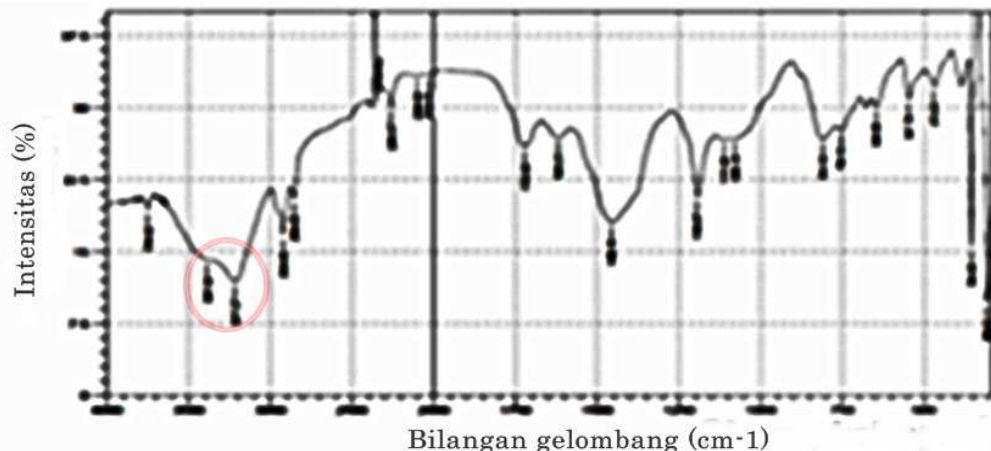
Analisis LC-MS senyawa hasil isolasi untuk pertama kalinya dilakukan dalam penelitian ini. Pada kondisi yang diterapkan, senyawa murni hasil isolasi yang diduga kuat merupakan senyawa hiptolida, memiliki waktu retensi 6,50 menit pada kromatogramnya. Puncak dengan waktu retensi tersebut memperlihatkan puncak  $m/z$  391 pada spektrogramnya, yang memperkuat dugaan bahwa senyawa murni hasil isolasi adalah hiptolida,  $[M+Na]^+$ . Besarnya harga  $m/z$  ini sesuai dengan  $m/z$  senyawa hiptolida hasil sintesis yang telah dilaporkan oleh Chakraborty dan Purkait (2008) untuk hiptolida hasil sintesis.

Semua hasil analisis ini yang telah diterapkan terhadap senyawa murni hasil isolasi tanaman *Hyptis pectinata* dapat mengindikasikan bahwa senyawa tersebut adalah Hiptolida.

### Reaksi Hidroborasi

Reaksi hidroborasi merupakan metode untuk mengkonversi ikatan rangkap  $C=C$  menjadi suatu alkohol. Reaksi transformasi ini melibatkan dua tahap reaksi, yakni adisi satu molekul borana ( $BH_3$ ) ke tiga molekul substrat (hiptolida), diikuti dengan hidrolisis dengan bantuan peroksida. Uji kemurnian hasil reaksi menggunakan TLC menunjukkan bahwa produk hidroborasi dalam eluen metanol/aseton (3/1) memiliki  $R_f$  0,83 dan 0,72 (hiptolida asal)

Keberhasilan adanya transformasi ikatan rangkap alkena menjadi alkohol tersebut dapat ditunjukkan adanya puncak pada  $3217$   $cm^{-1}$  (Gambar 4) yang merupakan puncak khas vibrasi ulur gugus hidroksil. Puncak ini tidak ditemukan pada senyawa asal (hiptolida).



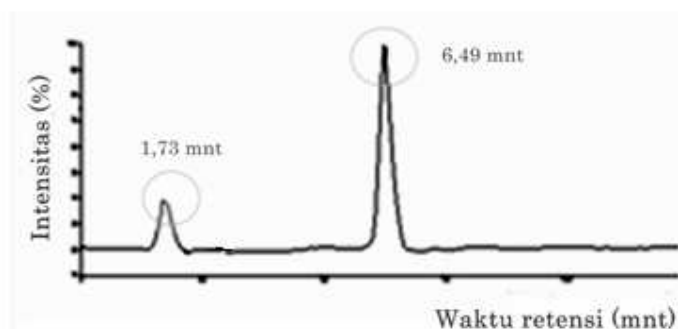
Gambar 4. Spektra infra merah produk hidroborasi

Pemeriksaan produk hidroborasi menggunakan LC-MS memberikan dua puncak pada kromatogramnya (Gambar 5), yakni puncak dengan waktu retensi (tr) 1,73 menit dan puncak pada tr 6,49 menit (senyawa hiptolida yang belum bereaksi). Komponen pertama diduga senyawa target mengingat memberikan puncak ion molekuler pada m/z 388 (Gambar 6) yang sesuai dengan  $[M+2H]^{2+}$ . Dengan mengabaikan faktor detector pada kromatogramnya, prosentase transformasi hiptolida menjadi produk alkohol turunannya adalah sebesar 29%. Penting dicatat bahwa reaksi ini dilakukan dalam rentang waktu 4 jam hidroborasi, sesuai dengan reaksi yang dilakukan oleh Ceylan dkk. (2006) untuk hidroborasi senyawa alkena sederhana, yakni phenilsikloheksena.

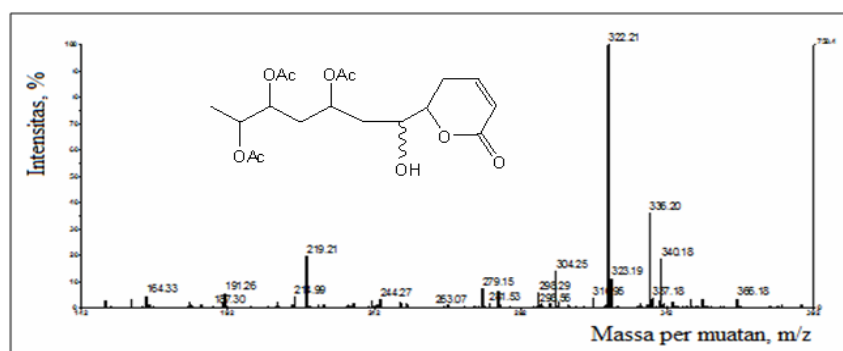
Usaha menghasilkan produk transformasi alkohol turunan hiptolida telah dilakukan melalui

perpanjangan waktu reaksi, hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa hiptolida dapat ditransformasi menjadi alkohol turunannya (II) menjadi 82% setelah dilakukan pengadukan selama 24 jam.

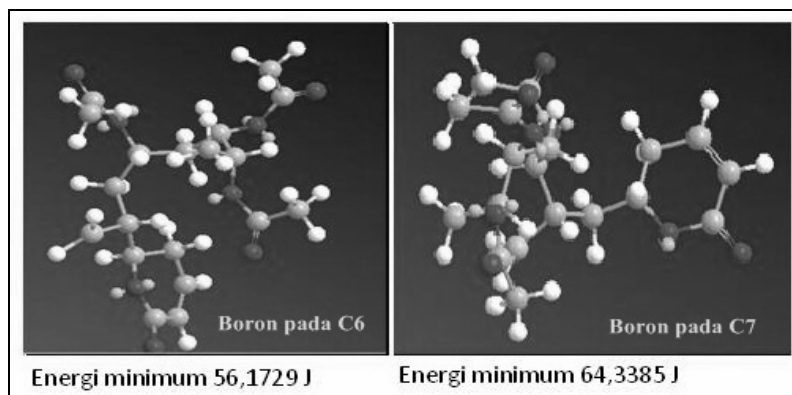
Regioselektivitas penyerangan boran ke ikatan rangkap diduga sesuai dengan aturan anti Markovnikov. Regioselektivitas penyerangan boron (yang akan diganti menjadi gugus hidroksil pada hasil akhir) diusulkan melalui komputasi dengan *Chem. Office*, dengan melihat energi Gibbs: posisi boron terikat pada posisi C6 lebih dimungkinkan dari pada posisi C7 karena memiliki energi yang lebih rendah (Gambar 7). Secara keseluruhan, reaksi oksidasi hiptolida ini akan menghasilkan senyawa *6-hydroxy-7-(6-oxo-3,6-dihydro-2H-pyran-2-yl)heptane-2,3,5-triyl triacetate*.



Gambar 5. Kromatogram produk hidroborasi



Gambar 6. Spectrogram massa produk hidroborasi dengan tr 1,73 menit



Gambar 7. Gambaran keadaan molekul untuk menerangkan regioseltivitas

Penelitian-penelitian lain yang berhubungan dengan transformasi senyawa hiptolida menjadi senyawa-senyawa lain perlu terus dilakukan di laboratorium. Senyawa hiptolida dan senyawa hasil transformasi tersebut selanjutnya akan diuji untuk kanker serviks guna memperoleh gambaran mengenai hubungan struktur dan aktivitasnya

#### KESIMPULAN

Senyawa hiptolida (C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub>) dapat diisolasi kembali dari *Hyptis pectinata*. Transformasi senyawa ini melalui reaksi hidroborasi menggunakan H<sub>3</sub>B:Et<sub>2</sub> telah dapat menghasilkan senyawa turunannya, diusulkan sebagai senyawa *6-hydroxy-7-(6-oxo-3,6-dihydro-2H-pyran-2-yl)heptane-2,3,5-triyl triacetate* dengan rumus molekul (C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>O<sub>9</sub>).

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai DIKTI melalui program penelitian multi tahun fundamental Universitas Diponegoro, dengan No. Kontrak 363d-7/UN7.5/PG/2011.

#### DAFTAR PUSTAKA

Achmad, S., Hoyer, T., Kjaer, A., Makmur, L., and Norrestam, R., (1987), Molecular and Crystal Structure of Hyptolide, a Naturally Occuring  $\alpha,\beta$ -Unsaturated  $\delta$ -Lactone, *Acta Chem. Scand.*, 41, pp. 599-609.

Birch, A.J. and Butler, D.N., (1964), The Structure of Hyptolide, *J. Chem. Soc.*, pp. 4167-4168.

Boalino, D.M., Connolly, J.D., McLean, S., Reynolds, W.F., and Tinto, W.F., (2003),  $\alpha$ -Pyrone and a 2(5)-Furanone from *Hyptis pectinata*, *Phytochemistry*, 64, pp. 1303-1307.

Ceylan, M., Budak, Y., Ulukaya, M., Gurdere, M.B., and Findik, E., (2006), Synthesis of 1-Cyclohept-1,2-dien-1-yl Benzene from 1-(2-iodo-, chlorocyclohept-1-en-1-yl)benzene and 1-(2-iodo-, chlorocyclohept-2-en-1-yl)benzene: Its Trapping with Diphenylisobenzofuran, *Turk. J. Chem.*, 30, pp. 663-672.

Chakraborty, T.K. and Purkait, S., (2008), Total Synthesis of Hyptolide, *Tetrahedron Letters*, 49, pp. 5502-5504.

Deng, Y., Balunas, M.J., Kim, J., Lantvit, D.D., Chin, Y-W., Chai, H. Sugiarto, S., Kardono, L.B.S., Fong, H.H.S., Pezzuto, J.M., Swanson, S.M., Blanco, E.J.C., and Kinghorn, A.D., (2009), Bioactive 5,6-Dihydro- $\alpha$ -pyrone Derivatives from *Hyptis brevipes*, *J. Nat. Prod.*, 72, pp. 1165-1169.

Dong, H., Bai, L-P., Wong, V.K.W., Zhou, H., Liu, J-R.W.Y., Jiang, Z-H, and Liu, L., (2011), The in Vitro Structure-Related Anti-Cancer Activity of Gineosides and Their Derivatives, *Molecules*, 16, pp. 10619-10630.

Espinoza, J.A.M., Vallejo, F.L., Serrano, M.F., Miranda, R.P., and Rojas, CM., (2009), Structural Reassignment, Absolute Configuration, and Conformation of Hypurticin, a Highly Flexible Polyacyloxy-6-heptenyl-5,6-dihydro-2H-pyran-2-one, *Journal of Natural Products*, 72, pp. 700-708.

Fortanet, J.G., Murga, J., Carda, M., and Marco, J.A., (2004), Stereoselective Synthesis of Hyptolide and 6-Epi-hyptolide, *Tetrahedron Letters*, 60, pp. 12261-12667.

Gorter, K., (1920), Hyptolide, a Bitter Principle of *Hyptis pectinata* Poit, *Bull. Jard. Bot. Buitenzorg L.*, 3, pp. 327-337.

Miranda, R.P., Hernandez, P., Villavicencio, M.J., Novelo, M., and Ibarra, P., (1993), Structure and Stereochemistry of Pectinolides A-C, Novel Antimicrobial and Cytotoxic 5,6-Dihydro- $\alpha$ -Pirone from *Hyptis Pectinata*, *Journal of Natural Products*, 56, pp. 583-593.

Sabitha, G., Reddy, C.N., Gopal, P., and Yadav, J.S., (2010), Stereoselective Total Synthesis of (+)-Anamarine via Cross-Metathesis Protocol, *Tetrahedron Letters*, 51, pp. 5736-5739.

Suzery, M. and Achmad, S., (1991), Transformation of hyptolide, *Proceedings The Fourth Congress Of Indonesian Chemical Society International Symposium and Exhibition Chemindo*, 28 July-1 Agustus 1991, Garden Palace Hotel Surabaya, Indonesia.